#2

PCT/JP 2004/005550

# 日本国特許庁 JAPAN PATENT OFFICE

19.4.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 Date of Application:

2003年 4月25日

出 願 番 号 Application Number:

特願2003-122463

[ST. 10/C]:

[JP2003-122463]

REC'D 1 0 JUN 2004

WIPO PCT

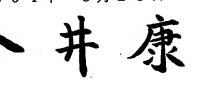
出 願 人 Applicant(s):

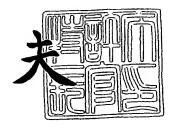
キヤノン株式会社

PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office 2004年 5月28日





殿

【書類名】

特許願

【整理番号】

254150

【提出日】

平成15年 4月25日

【あて先】

特許庁長官

【国際特許分類】

G01N 1/02

G02B 21/32

【発明の名称】

微小物体処理装置

【請求項の数】

1

【発明者】

【住所又は居所】

東京都大田区下丸子3丁目30番2号 キヤノン株式会

社内

【氏名】

前原 広

【特許出願人】

【識別番号】

000001007

【氏名又は名称】

キヤノン株式会社

【代理人】

【識別番号】

100123788

【弁理士】

、【氏名又は名称】

宮崎 昭夫

【電話番号】

03-3585-1882

【選任した代理人】

【識別番号】

100088328

【弁理士】

【氏名又は名称】

金田 暢之

【選任した代理人】

【識別番号】

100106297

【弁理士】

【氏名又は名称】 伊藤 克博

【選任した代理人】

【識別番号】

100106138

【弁理士】

【氏名又は名称】 石橋 政幸

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 201087

【納付金額】

21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】

明細書 1

【物件名】

図面 1

【物件名】

要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】

明細書

【発明の名称】

微小物体処理装置

【特許請求の範囲】

【請求項1】 光ピンセットを用いて微小物体を処理するための微小物体処理装置であって、

光源と、該光源から入射された光からホログラムを形成する第1の基体と、前 記微小物体を含む液体を保持する第2の基体とを備え、

前記第1の基体によって形成したホログラムを前記第2の基体上に保持された 前記液体中で結像させ、結像させたホログラムを前記光ピンセットとして用いる 微小物体処理装置。

## 【発明の詳細な説明】

[0001]

### 【発明の属する技術分野】

本発明は、バイオテクノロジーなどの技術分野において微小な物体を操作する、微小光学素子やマイクロマシーンまたはそれらを融合した手段を利用した微小物体処理装置に関する。

[0002]

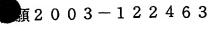
## 【背景技術】

バイオテクノロジーの発達とともに、細胞試料のような微小物体を簡便に効率 良く操作する方法、装置への要求が高まっている。

## [0003]

従来、細胞試料の操作は、顕微鏡下で観察しながら、操作器具を用いて注意深く行う方法が採られている。この際に用いられる操作器具としては、非常に近接した試料と顕微鏡の対物レンズの間で操作するのに都合のよいものが、用途に応じて自作するなどして用いられており、このような操作器具としては、例えば、特殊形状のキャピラリーやピペットが挙げられる。また、非常にデリケートな試料である細胞試料を傷つけないように捕捉、移動する手段として、光ピンセットを使用することも知られている。

[0004]



このような光ピンセットを用いた技術として、特許文献1には、複数の微生物 体を光学的トラップにより同時に捕捉することを目的として、単一の光学的トラ ップ手段によって時分割により複数の微生物体を同時並行的に捕捉することが開 示されている。

### [0005]

また、特許文献 2 には、複数個のレーザー光を発する面発光レーザーを光源と し、その各発光素子の発光強度を空間的・時間的に変調して、微小物体を捕捉・ 移動させることが開示されている。

### [0006]

### 【特許文献1】

特開2000-241310号公報

### 【特許文献2】

特開2002-219700号公報

# [0007]

# 【発明が解決しようとする課題】

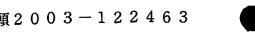
上述のように、細胞試料のような微小な物体の操作は、従来、顕微鏡下でマイ クロマニピュレーターを用いて行うのが一般的であるが、この操作は非常に難し く、このため操作には熟練を要し、また、所望の操作を行うのに非常に長い時間 が必要となる。このため、従来技術では、液体中に浮遊する細胞試料のような微 小物体を発見し、捕捉し、処理を行うために所望の位置に移動し、処理を行う操 作を簡単にかつ迅速に行うことは困難であった。

## [0008]

また、光ピンセットを用いた方法では、従来技術では、1つの微小な光ピンセ ットを用いて、微小な細胞試料を発見し、捕獲する操作を行うのが一般的である 。顕微鏡下でのこのような操作は非常に困難であり、この操作には非常に長い時 間を要している。また、特許文献 1 および 2 に記載された方法でも、その操作は 難しく、操作には熟練が必要である。

## [0009]

このように、従来技術では、微小物体の操作を効率的に行うのは困難であり、



微小物体の操作をする必要がある技術分野において、工業化を実施するにあたっ ては、微小物体の操作のために生産性が低く抑えられてしまうということが工業 化の大きな障害の一つとなっている。

### [0010]

光ピンセットを用いた方法では、光ピンセットを任意の形状に形成したり、同 時に複数の光ピンセットを形成し操作できるようにしたりすることで操作性を改 善することが考えられる。しかし、このためには、複雑な光学系や複数の光源が 必要となり装置の大型化、複雑化などの新たな問題が発生する。

### [0011]

本発明は、光ピンセットを利用して、微小物体を捕捉、移動する操作を簡便か つ迅速に実施することができ、なおかつ簡素な構成とすることが可能な微小物体 処理装置を提供するものである。

### [0012]

### 【課題を解決するための手段】

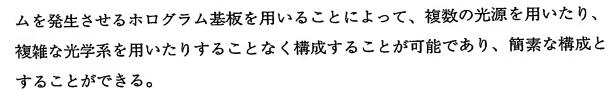
上述の課題を達成するため、本発明の微小物体処理装置は、光ピンセットを用 いて微小物体を処理するための微小物体処理装置であって、光源と、光源から入 射された光からホログラムを形成する第1の基体と、微小物体を含む液体を保持 する第2の基体とを備え、第1の基体によって形成したホログラムを第2の基体 上に保持された液体中で結像させ、結像させたホログラムを光ピンセットとして 用いることを特徴とする。

## [0013]

本発明によれば、ホログラムを利用することによって、所望のパターンの光ピ ンセットを形成することができる。それによって、単一の円状のパターンの従来 の光ピンセットを用いた場合には、難しい操作であった微小物体の移動などの操 作の操作性を向上させることができる。したがって、例えば、微小物体を所望の 位置へ簡単かつ迅速に移動させることが可能となり、その結果、大量の微小物体 の処理を効率的に実施することが可能となる。

## [0014]

この際、このような処理を可能とする本発明の微小物体処理装置は、ホログラ



### [0015]

### 【発明の実施の形態】

次に、図面を参照して、本発明の好ましい実施形態について説明する。

#### [0016]

### [第1の実施形態]

図1,2を参照して本発明の第1の実施形態について説明する。図1は、本実施形態の微小物体処理装置の基本的な構成を示す模式図である。図2は、図1の上方から見た平面図であり、一例の光ピンセットパターンを示している。

#### [0017]

この微小物体処理装置は、透明基板(第2の基体) 6上に載せられた、微小物体試料21を含む試料である試料液7中に光ピンセット8を形成するためのレーザー光源1を有している。レーザー光源1としては、例えばヘリウムーネオンレーザー光源を用いることができるが、これに限られることはなく、様々な光源を用いることができる。

### [0018]

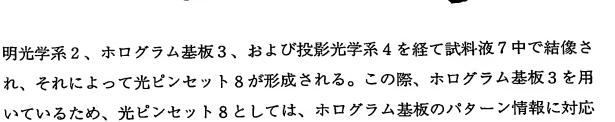
レーザー光源1と透明基板6の間には、照射されたレーザー光を、所望のパターンのホログラムを形成するように散乱、透過する所定のパターン形状に形成されたホログラム基板(第1の基体)3が配置されている。レーザー光源1とホログラム基板3の間には、レーザー光源1から射出されたレーザー光を集光してホログラム基板3に照射する照明光学系2が設けられ、ホログラム基板3と透明基板6の間には、ホログラム基板3を通った光を試料液7中で結像させる、ズーム機能を有する投影光学系4が設けられている。また、透明基板6の上方には、不図示の観察光学系が設けられている。観察光学系は、単眼であってもよいし、必要に応じて多眼であってもよい。

# [0019]

この微小物体処理装置では、レーザー光源1から射出されたレーザー光が、照

して、単純な円状の光ピンセットだけではなく、様々な形状を有するものや、複

数の部分からなるものなどの様々なパターンのものを形成することができる。



[0020]

この際、このような様々なパターンの光ピンセット8の形成を、基本的にはホログラム基板3を設けることのみによって可能とすることができ、したがって、光源を増やす必要が生じたり、装置の複雑化や大型化を招いたりすることがなく、装置構成は簡素なものとすることができる。特に、後述する使用例から分かるように、光ピンセット8を複数の部分からなるものとすることによって、様々な用途に適用することが可能な、応用性の高いものとすることができる。このような複数の部分からなる光ピンセットは、従来技術では、複数の光源を用いなければ形成できなかったものであるが、本実施形態によれば、ホログラム基板3を用いることによって、単一の光源を用いて形成することが可能である。

[0021]

図2 (a) に示す例では、六角形の各頂点に当たる位置にそれぞれ円状部を有する光ピンセットパターン22がホログラム基板3を用いることによって形成されている。この光ピンセットパターン22は、投影光学系のズーム機能を用いて、図2(b)に示すように、パターンを構成する円状部の大きさがより小さくなり、かつ間隔がより狭くなった光ピンセットパターン23へと容易に縮小することができる。

[0022]

次に、所望のパターンを有する光ピンセット8の使用例として、図2に示すパターンの光ピンセット8を用い、試料液7として、生理食塩水中に細胞試料を分散したものを用いて、抽出操作を行う方法について説明する。

[0023]

まず、レーザー光源1を起動して、試料液7中に、図2(a)に示すように大きめの光ピンセットパターン22を形成する。この際、光ピンセットパターン2

2の大きさは、それを構成する円状部によって囲まれる領域の大きさが、この例 では細胞試料である微小物体試料21に比較して十分大きくなるように設定する 。このようにすることによって、高い確率で、微小物体試料21が、図2(a) に示すように、光ピンセットパターン22によって挟み込まれるようにすること ができる。

#### [0024]

このように微小物体試料21を光ピンセットパターン22によって挟み込むこ とができたかどうかは、前述の観察光学系を用いて確認する。観察光学系は、こ の確認操作を容易に行えるように、光ピンセットパターン22が形成される位置 を観察できる位置にあらかじめ位置合わせされるようにしておくことができる。

### [0025]

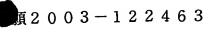
観察の結果、微小物体試料21が光ピンセットパターン22によって挟み込ま れていないのが確認された場合には、レーザー光源1を停止するなどして、光ピ ンセット8をいったん隠し、透明基板6またはレーザー光源1とホログラム基板 3を含む光ピンセット形成手段の位置をずらして両者の相対位置を変え、光ピン セットパターン22が形成される位置を調整する。その後、再び光ピンセットパ ターン22を試料液7中に形成し、微小物体試料21を挟み込むことができてい るかどうかを確認する操作を繰り返す。

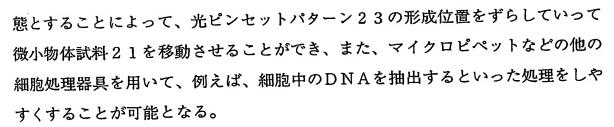
### [0026]

こうして、微小物体試料21を光ピンセットパターン22によって挟み込むこ とができたのを確認したら、次に、投影光学系4のズーム機能を用いて光ピンセ ット8のパターンを縮小していく。すると、図2(b)に示すように、微小物体 試料21は、光ピンセット8のパターンの中心に追い込まれていく。こうして、 縮小した光ピンセットパターン23の中心に微小物体試料21を捕捉することが できる。このように、光ピンセット8を試料液7に結像する光学系に、形成され る光ピンセット8のパターンを拡大、縮小させる機能を持たせることによって、 良好な操作性が得られる。

## [0027]

こうして、微小物体試料21を光ピンセットパターン23によって捕捉した状





### [0028]

このように、本実施形態によれば、ホログラム基板3を用いることによって、 試料の種類や実施する処理に合わせて所望のパターンの光ピンセット8を形成す ることができ、それによって、操作性を向上させることができる。そして、操作 性を向上させることによって、効率的な処理が可能となり、例えば、細胞試料か らDNAを抽出する処理を次々に繰り返し、多数の細胞試料からの抽出処理を迅 速に実施することが可能となる。

#### [0029]

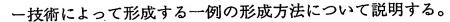
上述のように所望のパターンのホログラムを形成するホログラム基板3のデザ インは、いわゆる計算機合成ホログラム(CGH)を用いて実施することができ る。デザインに応じた加工は、ガラス基板などの基板にレジストパターンを形成 しエッチング処理する、一般的なリソグラフィー技術を用いて実施することがで きる。レジストパターンの形成は、光露光装置、電子線露光装置、X線露光装置 、EUV露光装置、イオンビーム露光装置などの通常の露光装置を用いて実施で きる。一方、エッチング処理としては、エッチング後のパターン形状を良好に制 御できるように、反応性イオンエッチングなどのドライエッチング処理を実施す ることが望ましい。これらレジストパターンの形成とエッチング処理の工程を繰 り返し実施することによって、複雑なパターンであっても簡便かつ良好に形成す ることができる。

## [0 0 3 0]

このようなホログラム基板3の形成パターンの例を図3に示す。この例では、 図3 (b) に示す階段状のパターンが、図3 (a) に示すように、石英基板40 1上に複数形成されている。

## [0031]

次に、図4を参照して、8段の上述のような階段状のパターンをリソグラフィ



### [0032]

この例では、基板として石英基板51を用いており、まず、この石英基板51上にレジストを塗布し、I線ステッパーを用いて露光、現像し、図4(a)に示す第1のレジストパターン52を形成する。第1のレジストパターン52は、帯状のレジスト形成部が5つ並んだパターンを有している。そして、図4(b)に示すように、第1のレジストパターン52をマスクとして、CHF3ガスを用いて石英基板51をドライエッチングする。これによって、2段の階段状のパターンが隣接して4つ形成される。

### [0033]

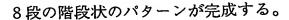
次に、第1のレジストパターン52を除去した後、同様にして、図4(c)に示すように、第2のレジストパターン53を形成する。第2のレジストパターン53は、4つの、前の工程で形成された2段階段状のパターンのうち、図の左側から1番目のものと3番目のものを覆い、また4番目のものの右隣の領域を覆うパターンを有している。そして、この第2のレジストパターン53をマスクとして石英基板51をエッチングする。すると、レジストによって覆われていない2段階段状パターンが、そのパターンを維持したままエッチングされていき、最終的に、図4(d)に示すように、エッチングされた2段階段状パターンと、エッチングされない2段階段状パターンとによって4段の階段状のパターンが形成される。

## [0034]

次に、再び第2のレジストパターン53を除去した後、図4(e)に示すように、第3のレジストパターン54を形成する。第3のレジストパターン54は、前の工程で形成された2つの4段階段状パターンのうちの、図の左側のものを覆い、また、右側のものの右隣の領域を覆うパターンを有している。この第3のレジストパターン54をマスクとして、同様にエッチングを実施することによって、図4(f)に示すように、8段の階段状のパターンが形成される。

## [0035]

最後に、第3のレジストパターン54を除去して、図4(g)に示すように、



### [0036]

### [第2の実施形態]

次に、図5を参照して本発明の第2の実施形態について説明する。図5は、本 実施形態の微小物体処理装置のシステム全体の構成を示す模式図である。

#### [0037]

第1の実施形態と同様に、微小物体処理装置は、試料液36が載せられる透明基板35を有している。透明基板35は、微動ステージ39と粗動ステージ38上に設置されている。したがって、透明基板35は、光ピンセット37を形成する、例えばヘリウム―ネオンレーザー光源であるレーザー光源31とホログラム基板331を有する光ピンセット形成手段に対して位置調節することができ、それによって光ピンセット37の形成位置を調整することができる。

#### [0038]

このように微動ステージ39と粗動ステージ38を設けた構成は、粗動ステージ38によって、高速な位置調節を可能とし、かつ微動ステージ39によって高精度な位置調整を可能とし、全体として高速かつ高精度の位置調節を可能とすることができ好ましい。したがって、微動ステージ39と粗動ステージ38を用いて光ピンセット37の位置を調整することによって、第1の実施形態において説明したような、微小物体試料と光ピンセット37との位置調整や、光ピンセット37によって捕捉した微小物体試料の移動を、高速かつ高精度に実施することが可能である。

## [0039]

透明基板35の位置調節機構は、この構成に限られることはなく、例えば、必要に応じて、透明基板35を傾斜させる機構や回転させる機構を設けてもよい。また、本実施形態では、光ピンセット37の位置を調節する機構として、透明基板35側に、それを移動させる粗動ステージ38および微動ステージ39を設けた例を示しているが、光ピンセット形成手段側にそれを移動させる手段を設けてもよい。すなわち、透明基板35と光ピンセット形成手段とを相対的に移動させることによって、試料液36中での光ピンセット37の形成位置を調整すること



### [0040]

レーザー光源31と透明基板35の間には、第1の実施形態と同様に、レーザー光源31から射出されたレーザー光を集光してホログラム基板331に照射する照明光学系32と、ホログラム基板331を通った光を試料液36中で結像させる、倍率変化機能を有する投影光学系34が設けられている。したがって、ホログラム基板331のパターン情報に対応して、所望のパターンの光ピンセット37を形成し、また、必要に応じてそのパターンを拡大、縮小することができる

#### [0041]

透明基板35上には、観察光学系41が設けられており、光ピンセット37による試料液36の操作、例えば、細胞試料の捕捉や搬送や、マイクロピペットなどの細胞処理器具40での操作の様子をモニターすることができる。

### [0042]

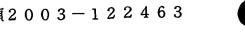
また、本実施形態のシステムには、さらに、ホログラム基板ライブラリ42が設けられており、ここに、それぞれ異なるパターンのホログラムを形成する複数のホログラム基板332,333,334が保持されている。これらのホログラム基板331,332,333,334は、例えばロボットハンドなどの基板交換手段(不図示)を用いて、必要に応じて取り替えて光ピンセット37の形成に用いることができる。したがって、本実施形態の構成では、試料液36の種類や、それに対して実施する処理の内容に応じて、処理を行うのに適したパターンの光ピンセット37を選択して用いることができ、汎用性の高いシステムとすることができる。

### [0043]

### [第3の実施形態]

次に、図6を参照して本発明の第3の実施形態について説明する。本実施形態では、第1、第2の実施形態の構成において、透明基板の構成を工夫したものであり、図6は、試料液を保持する透明基板の平面図を示している。

### [0044]



本実施形態において、透明基板は、微小物体試料61を所定の位置に位置させ ることができる位置決めパターン65を有している。すなわち、位置決めパター ン65は、図6に示す例では、右側から左側に向かって幅が狭くなった三角形状 の開口が形成されたパターンを有している。したがって、微小物体試料61は、 右側から左側へと移動させることによって、位置決めパターン65に形成された 開口の一番奥の位置に位置決めされる。

### $[0\ 0\ 4\ 5]$

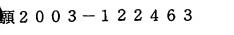
また、透明基板には、位置決めパターン65の開口から放射状に延びる通路6 4を形成するガイドパターン63を有している。このガイドパターン63は、微 小物体試料61を含む試料液を透明基板上に載せた際、微小物体試料61が、高 い確率で通路64内に位置するように構成されている。すなわち、図6に示す例 では、ガイドパターン63は、多数の小さな円状部から形成されており、この円 状部の間隔を、通路64の部分を除いては、微小物体試料61、例えば細胞試料 の標準的な大きさよりも小さくしておくなどすることによって、微小物体試料 6 1が通路64内に位置しやすくなるようにすることができる。

## [0046]

この透明基板上に試料液を載せた後、光ピンセットを用いて微小物体試料 6 1 を位置決めパターン65へと移動させる操作を行う。この際、ホログラム基板と しては、図6 (a) に示すように、各通路64内に円状部を有する光ピンセット パターン621を形成するものを用いる。このように、ガイドパターン63のた めに、微小物体試料 6 1 が位置しやすなっている領域に光ピンセットの一部が形 成されるようにすることによって、微小物体試料61を光ピンセットによって効 率良く操作することが可能となる。

## [0047]

そして、光ピンセットパターン621を、図6(b)に示すように、それを構 成する円状部が放射状の通路64内を外側から内側へと移動するように、光ピン セットパターン622へと縮小しつつ、左側に移動させる。これによって、前述 のように高い確率で通路64内に位置する微小物体試料61を位置決めパターン 65側へと移動させ、最終的に、位置決めパターン65の開口の一番奥の所定の



位置に、微小物体試料61を高い確率で位置させることができる。そして、この ように微小物体試料61を所定の位置に位置させ、保持することによって、細胞 試料からDNAを抽出するといった所定の処理を行いやすくし、このような所定 の処理を効率的に実施可能とすることができる。

#### [0048]

以上のように、本実施形態によれば、微小物体試料61の位置を規制するガイ ドパターン63や位置決めパターン65を形成した透明基板と、その透明基板の 形成パターンに応じた所定の光ピンセットパターン621を組み合わせて用いる ことによって、効率的な処理を実施することが可能となる。

#### [0049]

#### 【発明の効果】

本発明により、光ピンセットを利用して、微小物体を捕捉、移動する操作を簡 便かつ迅速に実施することができ、なおかつ構成の簡素な微小物体処理装置を提 供することが可能となった。

### 【図面の簡単な説明】

### 【図1】

本発明の第1の実施形態の微小物体処理装置の基本構成を示す模式図である。

### [図2]

図1の上方から見た平面図であり、一例の光ピンセットパターンを示している

## 【図3】

0

図1の微小物体処理装置に備えられるホログラム基板の、一例のパターンを示 す模式図である。

#### 【図4】

図3のホログラム基板のパターンを形成する一例の形成方法を示す模式図であ り、図4 (a) ~ (g) は、形成工程を時系列に示している。

### 【図5】

本発明の第2の実施形態の微小物体処理装置のシステム全体の構成を示す模式 図である。



本発明の第3の実施形態の微小物体処理装置における透明基板の平面図である

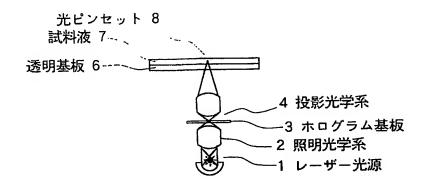
### 【符号の説明】

- 1,31 レーザー光源
- 2,32 照明光学系
- 3, 331, 332, 333, 334 ホログラム基板
- 4,34 投影光学系
- 6,35 透明基板
- 7,36 試料液
- 8,37 光ピンセット
- 21,61 微小物体試料
- 22, 23, 621, 622 光ピンセットパターン
- 38 粗動ステージ
- 39 微動ステージ
- 40 細胞処理器具
- 41 観察光学系
- 42 ホログラム基板ライブラリ
- 51,401 石英基板
- 52 第1のレジストパターン
- 53 第2のレジストパターン
- 54 第3のレジストパターン
- 63 ガイドパターン
- 64 通路
- 65 位置決めパターン
- 402 ホログラムパターン

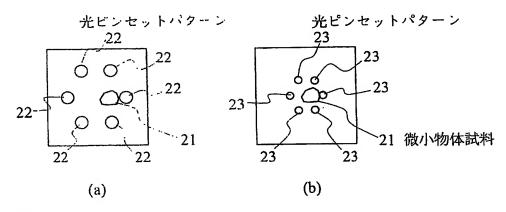


図面

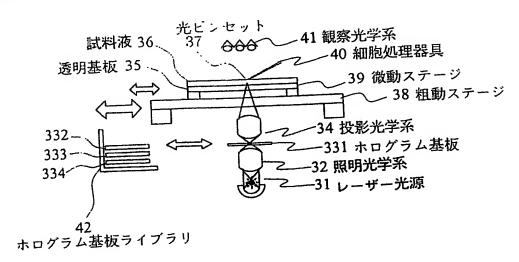
### 【図1】



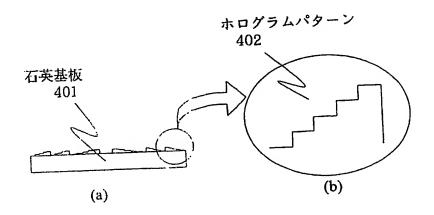
## 【図2】



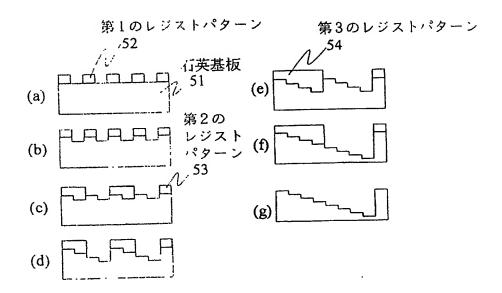
### 【図3】



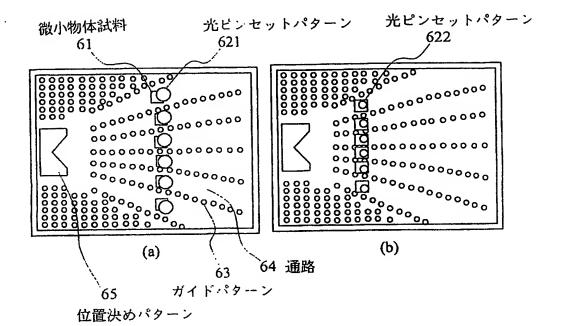




【図5】









要約書

### 【要約】

【課題】 光ピンセットを利用して、微小物体を捕捉、移動する操作を簡便かつ 迅速に実施することができ、なおかつ簡素な構成とすることが可能な微小物体処 理装置を提供する。

【解決手段】 微小物体処理装置のレーザー光源1から射出されたレーザー光は 照明光学系2を介してホログラム基板3に照射される。ホログラム基板3は所定 のパターン形状を有しており、照射されたレーザー光を所定のパターンで透過、 散乱する。ホログラム基板3を通った光は、投影光学系4を介して、透明基板6 上に保持された試料液7中で結像され、それによって、ホログラム基板3のパタ ーン形状に応じた様々なパターンのホログラムが試料液7中に形成される。この ようにして形成されたホログラムを光ピンセット8として利用する。

【選択図】 図1

ページ: 1/E

特願2003-122463

出願人履歴情報

識別番号

[000001007]

1. 変更年月日

1990年 8月30日

[変更理由]

新規登録

住 所 氏 名 東京都大田区下丸子3丁目30番2号

キヤノン株式会社